

**Mycoplasma pneumoniaeの血清発育阻止抗体に関する研究 1 Fermentation inhibition testによる発育阻止抗体測定の検討 2 エリスロマイシン耐性M.pneumoniae株の作成とそのFermentation inhibition testへの応用 3 M.pneumoniae感染における血清発育阻止抗体の意義**

著者	長谷川 純男
号	691
発行年	1971
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/18937">http://hdl.handle.net/10097/18937</a>

氏 名 ( 本 籍 )                      は      せ      がわ                      じゅ                      お  
   長   谷   川                      純                      男

学 位 の 種 類                      医                      学                      博                      士

学 位 記 番 号                      医                      第                      6 9 1                      号

学位授与年月日                      昭 和 4 6 年                      2 月 1 9 日

学位授与の要件                      学位規則第 5 条第 2 項該当

最 終 学 歴                      昭 和 3 9 年 3 月  
   東北大学医学部卒業

学 位 論 文 題 目                      *Mycoplasma pneumoniae* の血清発育阻止抗  
   体に関する研究

- 1    Fermentation inhibition test に  
      による発育阻止抗体測定の検討
- 2    エリスロマイシン耐性 *M. pneumoniae*  
      株の作成とその Fermentation  
      inhibition test への応用
- 3    *M. pneumoniae* 感染における血清発育阻  
      止抗体の意義

( 主   査 )

論文審査委員    教授   新   津   泰   孝   教授   石   田   名 香 雄

教授   山   根                      績

## 論 文 内 容 要 旨

*M. pneumoniae* 感染によつて生ずる血清抗体のうち発育阻止抗体はその他の抗体と同様その上昇は *M. pneumoniae* の感染を示すもので、*M. pneumoniae* 感染の血清診断に用いられる。又発育阻止抗体は *M. pneumoniae* の感染防禦に最も関係のある抗体で *M. pneumoniae* に対する免疫を知る指標となる。

私はまず血清発育阻止抗体測定法のうち Fermentation inhibition (FI) test について検討を行ない、発育阻止抗体測定法として簡単でよい方法であることを明らかにし、エリスロマイシン (EM) 感受性 *M. pneumoniae* 株での測定では EM 投与者では測定した発育阻止価に問題があることを指摘し、ついで EM 耐性 *M. pneumoniae* 株を初めて試験管内で作成し、FI test には EM 耐性株を使用すべきであることを明らかにし、更に肺炎及び対照小児 1032 名の対の血清について FI test によつて発育阻止抗体価を測定し、*M. pneumoniae* の血清発育阻止抗体の意義を究明した。

第 1 報においては血清発育阻止抗体測定のためのマイクロタイター法による FI test について検討した。FI test は *M. pneumoniae* がブドウ糖分解能を有し、ブドウ糖、フェノールレッド含有液体培地では発育に伴ない pH はさがり、黄色化する性質を利用し、培地の黄色化を指標として発育を判定する方法である。培地の pH は 7.8 とし EM 感受性 Mac 株を使用し、次の成績をえた。

1) FI test に用いる接種用菌液については、対照が黄色化した日に判定する発育阻止抗体価は  $10^3 \sim 10^5$  CFU/ml 菌液の範囲でほぼ一定した値がえられ、判定が 1 日遅れても阻止価に有意の差はなかつたから、 $10^3 \sim 10^5$  CFU/ml ( $10^{-3} \sim 10^{-5}$  希釈) 菌液が適当である。又血清を  $56^\circ\text{C}$  30 分加熱非働化した方が接種菌量がちがつても発育阻止価はより一定していた。2) この方法では対照に比べ *M. pneumoniae* の発育が  $1/100$  以下に抑制された時発育阻止抗体があると判定することになる。3) 抗生物質投与をうけていない *M. pneumoniae* 感染者 7 名の対の血清では発育阻止抗体価の推移は補結抗体価の推移と一致していた。この場合発育阻止抗体価が補結抗体価に遅れて上昇した例が 2 名あつた。4) FI test は血清発育阻止抗体測定法として簡単なよい方法である。5) 肺炎小児の 3 回採取した対の血清で発育阻止価が一過性上昇を示した全例に EM が投与されていたことから、EM 感受性株を用いた FI test では EM 投与は血清中の EM により血清発育阻止価の上昇をきたす可能性を示した。

そこで EM 耐性の *M. pneumoniae* を作成し、それを用いて FI test を行なえば、EM 投与の影響をさけ、正しい血清発育阻止抗体価が測定できると考え、第 2 報においては *M. pneumoniae* の EM 耐性の試験管内獲得実験を行なうとともに、EM に耐性を獲得した株を用いて FI test を行なつた。

1) EM耐性獲得実験においては次の成績をえた。a) 対照と同程度に発育するEMの濃度が0.0015  $\mu\text{g}/\text{ml}$ でEMに感受性のある継代Mac株及び分離株福村株をEM含有液体培地に継代し、対照と同程度に発育するEMの最大濃度が夫々200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 及び10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ のEM高度耐性株をつくることにはじめて成功した。b) この耐性株は先に我々が報告したEM耐性分離株と同様にロイコマイシン(LM)、ジョサマイシン(JM)、スピラマイシン(SP)、オレアンドマイシン(OL)のマクロライド系抗生物質とリンコマイシン(LCM)に交叉耐性を獲得していた。c) 試験管内及び生体内で獲得した各抗生物質に対する耐性の程度は2株の間に差があつた。d) 獲得した耐性は継代した後も安定していた。

2) EM感受性Mac株及びEM耐性Mac株を用いてFitestを行ない次の成績をえた。a) 3回採血したM. pneumoniae感染を否定した66名の異型肺炎小児の対の血清でEM感受性株では1:8~1:128の発育阻止価の一過性上昇を示した小児が17名あり、16名は上昇時EM投与をうけていた。EM耐性株を用いた成績では一過性上昇は認められなかつた。テトラサイクリン(TC)投与の5名では一過性上昇はみられなかつた。b) EM感受性、耐性株の間に測定した発育阻止抗体価に差はなかつた。c) EM, LM, SP, OL, LCM, TC, クロラムフェニコール経口投与後の経時的血清発育阻止価はEM, LM, OLはEM感受性株では1:8~1:128に上昇したが、EM耐性株では上昇はみられなかつた。d) FitestでのM. pneumoniae感染の血清診断に際し、EM, LM, OL投与例ではEM感受性株を用いると誤診するおそれがあるが、EM耐性株ではそのような誤診はない。従つて発育阻止抗体測定には抗生物質投与中でも正しい抗体価のえられるEM耐性株を用いるべきである。

第3報においては抗生物質投与をうけていても正しい抗体価をうるためにEM耐性株を用いてFitestを行ない、昭和40~44年仙台市幼児学童生徒の毎年約7万名の集団検査で発見した異型肺炎614名、対照418名、計1032名の対の血清について発育阻止抗体価を測定し次の成績をえた。

1) 異型肺炎614名中血清抗体価上昇により診断したM. pneumoniae肺炎は発育阻止抗体で41名6.7%, 補結抗体で32名5.2%で、発育阻止抗体による検出率の方が高かつた。補結抗体価の上昇なく $\geq 1:64$ の例を加えると補結抗体による検出は75名12.2%と最も高率であつた。これにM. pneumoniaeの分離を加えた成績ではM. pneumoniae肺炎は86名14.0%であつた。2) M. pneumoniae肺炎では赤血球寒冷凝集素は発育阻止抗体より早期に上昇し速やかに下降した。発育阻止抗体は補結抗体に比べ遅れて上昇し、長く維持された。発育阻止、補結抗体ともに肺炎時の症状の強い例ほど抗体価は高い傾向を示した。3) 補結抗体価の上昇なき $\geq 1:64$ をM. pneumoniae感染と診断して大きい誤りはないが、発育阻止抗体価の上昇なき $\geq 1:64$ をM. pneumoniae感染と診断すると誤るおそれより大きい。4) M. pneumoniae感染を除いた939名の初診時血清では、補結抗体価の高い例ほど発育阻止抗体保有率が高く両者は相関していた。5) 小学校以上の発育阻止抗体保有率は毎年小1年に最も低く高学年ほど高かつた。小2年以上では抗体保有率の高い学年ほどM. pneumoniae肺炎の発見率は低かつた。又毎年の抗体保有率とM. pneumoniae肺炎発見率との間には関連が認められた。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本論文は*M. pneumomiae* の血清発育阻止抗体測定法を検討し、抗生物質投与が発育阻止価に及ぼす影響を明らかにし、抗生物質投与中でも正しい発育阻止抗体価の測定できる方法を考案し、*M. pneumoniae* 感染における血清発育阻止抗体の意義を究明した研究である。

発育阻止抗体測定はマイクロタイターを用いたFermentation inhibition (FI) test によつた。第1報においてはFI test の検討を行ない、簡単でよい方法であることを明らかにするとともに、従来のエリスロマイシン (EM) 感受性株を用いたFI test ではEM投与中に採血した血清ではEMにより発育阻止価が上昇し、正しい抗体価が測定できない可能性を示唆した。

そこでEM耐性*M. pneumoniae* 株を作成し、それによつてFI test を行なえば正しい発育阻止抗体価の測定ができると考え、第2報においては*M. pneumoniae* の試験管内EM耐性獲得実験を行ない、ついでEM耐性株を用いてFI test を行ない、次の成績をえている。

EM感受性の継代Mac株と分離株とをEM含有液体培地に継代することによつて夫々EM200  $\mu$ g/ml, 100  $\mu$ g/ml の高度完全耐性株の作成に成功した。この耐性株はロイコマイシン (LM), ジョサマイシン (JM), スピラマイシン (SP), オレアンドマイシン (OL) のマクロライド系抗生物質とリンコマイシン (LCM) とに交叉耐性を獲得していた。この耐性は抗生物質を含まない培地に継代した後も安定していた。

感受性株でのFI test ではEM, LM, SP, OL, LCM, テトラサイクリン, クロラムフェニコールのうちEM, LM, OLは投与後血清発育阻止価が上昇するが、EM耐性株ではこの上昇はみられないこと、従つて血清発育阻止抗体価測定にはこれらの抗生物質投与中でも正しい抗体価が測定できるEM耐性株を用いるべきであること、これによつて発育阻止抗体測定による*M. pneumoniae* 感染の血清診断において誤診をさけることができることを明らかにした。

第3報においてはEM耐性株を用いて集団検査で発見した異型肺炎、対照小児1,032名の対の血清の発育阻止抗体価を測定し、発育阻止抗体の意義について次の成績をえている。

異型肺炎614名中*M. pneumoniae* 肺炎は血清抗体価上昇から診断すると発育阻止抗体では6.7%で、補結抗体での5.2%より高かつた。補結価の上昇のない $\geq 1:64$ を加えると補結では12.2%となり、これに*M. pneumoniae* 分離陽性を加えると14.0%であつた。また学年別、年度別血清発育阻止抗体保有率と*M. pneumoniae* 肺炎発見率との間には関連がみつめられた。

本論文における*M. pneumoniae* の試験管内EM耐性獲得成功に関する成績、EM耐性株使用により発育阻止価を上昇させる抗生物質投与中でも正しい血清発育阻止抗体価が測定できることを明らかにした成績、EM耐性株を用いて多数の対象の発育阻止抗体価を測定した成績は最初の報告であつて、独創的研究である。その他の研究成果とともに*M. pneumoniae* 感染症の解明に役立つことが大きい。従つて本論文は博士の称号を授与するに値する論文であると断定する。